



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
TRABAJO FIN DE GRADO

NANOSISTEMAS PARA EL
TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE
ALZHEIMER

Autor: Elisa Lozano Alonso

D.N.I.: 05314131-G

Tutor: M^a Sofía Elisa Negro Álvarez.

Convocatoria: Junio 2016

Índice

Resumen.....	2
1. Introducción y Antecedentes.....	2
1.1 Neurobiología	3
1.2 Limitaciones de la terapéutica actual	6
1.3 La Barrera hematoencefálica.....	7
2. Objetivos.....	8
3. Metodología.....	8
4. Resultados y Discusión.....	9
4.1 Nanopartículas poliméricas.....	10
4.2 Nanopartículas lipídicas sólidas	14
4.3 Nanoliposomas	15
4.4 Nanopartículas de oro.....	16
5. Conclusiones	17
Bibliografía	18

Nanosistemas para el tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer

Palabras clave:

nanotecnología, enfermedad de Alzheimer, nanopartículas, nanoliposomas, administración de fármacos a través de barrera hemato-encefálica

Resumen

La Enfermedad de Alzheimer representa la forma más común de demencia. Afecta a más de 35 millones de personas y se espera que estos números se incrementen de forma exponencial en los próximos años. A falta de métodos de diagnóstico precoz y de un tratamiento efectivo que frene y pueda revertir los daños neurológicos, la nanotecnología se presenta como una de las líneas de investigación más prometedoras para lograr la entrega y liberación de fármacos al sistema nervioso central, protegido por la barrera hemato-encefálica, uno de los principales obstáculos para conseguir tratamientos farmacológicos eficaces. En este trabajo se describen algunos de los nanosistemas investigados hoy en día y nos centraremos en el empleo de las nanopartículas y liposomas como alternativa de tratamiento para la enfermedad de Alzheimer.

Abstract

Alzheimer's disease represents the most common form of dementia. It affects more than 35 million people worldwide and this number is expected to increase exponentially in the next few years. In the absence of early diagnosis methods and effective treatment to halt and reverse the neurological damage, nanotechnology is presented as one of the most promising lines of research to achieve drug delivery to the central nervous system, protected by the blood-brain barrier, one of the main obstacles to carry out effective pharmacological treatments. This review describes some of the most researched nanosystems nowadays and will focus on the use of nanoparticles and liposomes as an alternative for the treatment of Alzheimer's disease.

1. Introducción y Antecedentes

Según los datos de 2014 del Instituto Nacional de Estadística (INE) las demencias, entre las que se cuentan las demencias vasculares y seniles entre otras, son la cuarta causa de muerte en España. No se incluye la demencia tipo Alzheimer, que es la séptima causa de muerte más habitual en España y se encuadra dentro de enfermedades del sistema nervioso. Más de 35 millones de personas en todo el mundo sufren de enfermedad de Alzheimer (EA), un deterioro de la memoria y las funciones cognitivas que conduce a la muerte entre 3 y 9 años tras el diagnóstico (Querfurth y LaFerla, 2010). De cada 10 fallecidos por estas dos causas, siete fueron mujeres.

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la muerte neuronal (figura 1), la presencia de marañas neurofibrilares de la proteína insoluble Tau en los somas neuronales y los depósitos del péptido β -amiloide en los espacios interneuronales.

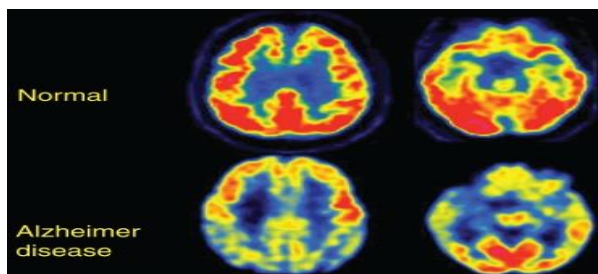


Figura 1. Plano axial con imágenes de FDG-PET (2-fluoro-2-desoxi-D-glucosa-Positron Emission Tomography) de un sujeto control normal y un paciente con grado medio de Alzheimer. Nótese el severo hipometabolismo de la glucosa (regiones corticales amarillas y azules) en el paciente con Alzheimer. Este patrón empeora lentamente de forma paralela con los síntomas y se correlaciona con el diagnóstico patológico de la EA en la autopsia (tomado de Johnson y cols., 2012).

El cuadro típico comienza con el déficit progresivo de la memoria episódica, seguido de trastornos cognitivos, trastornos del lenguaje y apraxia. A medida que la enfermedad avanza el paciente puede sufrir alteraciones del comportamiento tales como ideas delirantes, alucinaciones, apatía, agresividad, alteración de los ritmos circadianos y trastornos de la afectividad (ansiedad, depresión), deterioro motor, incontinencia, deterioro de la ingesta de alimentos, inmovilidad, mutismo y la muerte.

1.1 Neurobiología

La EA produce una atrofia cerebral progresiva, bilateral y difusa con una pérdida localizada de neuronas que afecta sobre todo al hipocampo y la porción basal del prosencéfalo, con la consiguiente aparición de depósitos insolubles tanto extracelulares como intracelulares. La pérdida de neuronas colinérgicas del hipocampo y la corteza frontal es el origen de la deficiencia cognitiva y la pérdida de la memoria a corto plazo en la EA (Rang y cols., 2008).

El elemento fundamental de los depósitos extracelulares es la proteína β -amiloide, que forma fibrillas y se agrega, constituyendo las placas difusas y las placas neuríticas. La

acumulación anormal de la proteína β -amiloide en forma de placas seniles es una de las características fundamentales tanto de la aparición como del deterioro posterior que ocurre en la enfermedad de Alzheimer. Así, recientemente se ha demostrado en modelos animales de la enfermedad que la disminución de los niveles de péptido β -amiloide puede prevenir o incluso eliminar las alteraciones cognitivas que se producen en esta patología (*Eckman y Eckman, 2005*). Además, en líquido cefalorraquídeo de pacientes con Alzheimer existen niveles elevados de distintas proteínas, como son la proteína Tau y la proteína asociada al crecimiento (GAP43). Estas proteínas se consideran como marcadores estables para el estudio de la enfermedad.

Las marañas neurofibrilares consisten en filamentos intraneuronales de una proteína asociada a microtúbulos (Tau), hiperfosforilada en múltiples sitios.

Las placas amiloideas, tal como se ha indicado previamente, son agregados extracelulares cuyo componente principal es un péptido llamado β -amiloide ($A\beta$), de 40-42 aminoácidos, generado por la escisión anómala de la APP (proteína precursora de amiloide). Cuando la APP es escindida por la α -secretasa, que es la vía normal, el producto resultante es un péptido soluble, que puede ser posteriormente eliminado del organismo con facilidad. Sin embargo, en la enfermedad de Alzheimer predomina la escisión consecutiva de la APP por parte de la β -secretasa primero, y de la γ -secretasa después, formándose entonces el péptido β -amiloide, insoluble, que las neuronas excretan a su exterior (Figura 2) (Murphy y LeVine, 2010). La formación de fibras de amiloide va a ser desencadenada o acelerada por la presencia de chaperonas como la acetilcolinesterasa (AChE) y la apolipoproteína J (Apo J), por metales que actuarían como catalizadores de reacciones de óxido-reducción (Fe^{2+} y Cu^{2+}) o por mutaciones de la secuencia del $A\beta$. Las fibras de amiloide constituirán las placas seniles de los individuos afectados por la enfermedad de Alzheimer, y en los vasos sanguíneos cerebrales y meníngeos pueden producir la angiopatía amiloidea cerebral (AAC) (tomado de Muñoz López, 2001).

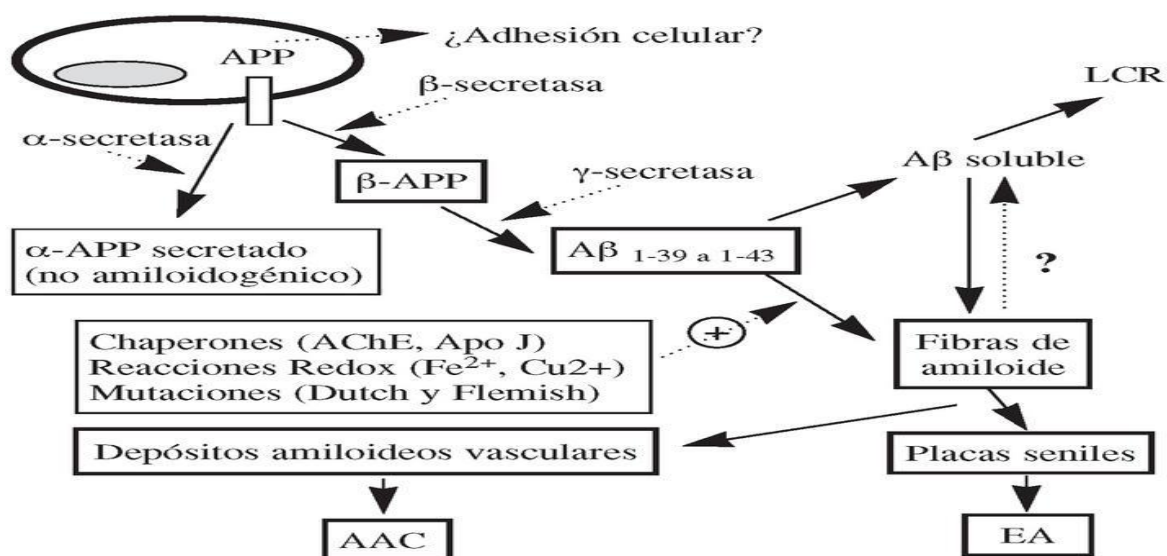


Figura 2. Liberación y agregación del péptido β-amiloide (Tomado de Muñoz López, 2001).

Además de los mecanismos indicados anteriormente, hay otros implicados en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer, tales como la alteración de la homeostasis de iones neuronales (como por ejemplo iones hierro, cobre y calcio), alteración de la homeostasis de colesterol, neuroinflamación, deficiencia de neurotransmisores y muerte celular por apoptosis (LeBlanc, 2005).

Hay dos tipos conocidos de EA, la minoritaria de inicio precoz que se asocia a una herencia autosómica dominante y la forma típica sin asociación hereditaria. En los pacientes con EA de inicio precoz parecen estar afectados los cromosomas 1, 14 y 21, en los genes de la presenilina 1 y 2, y de la proteína precursora de amiloide (APP), respectivamente, lo que condiciona la actividad de β y γ-secretasas que resultan en un exceso de producción de fragmentos de β-amiloide que se agregan y depositan formando las placas características de la enfermedad.

En aquellos pacientes afectados por la forma típica de la EA el factor genético más susceptible es el gen de la apolipoproteína E (ApoE) en el cromosoma 19, del cual hay 3 alelos posibles, E2, E3 y E4. El alelo E4 es el que parece que proporciona el riesgo de padecer la enfermedad ya que se relaciona con la producción de β-amiloide, la hiperfosforilación de la proteína tau, la inflamación y la neuroplasticidad.

1.2 Limitaciones de la terapéutica actual

La causa fundamental de la EA sigue siendo desconocida hoy en día y el tratamiento actual se orienta hacia el control de los síntomas. El tratamiento disponible para la disfunción cognitiva en EA está basado en la modulación o sustitución de neurotransmisores y enzimas, que produce beneficios sintomáticos e incluye:

- ◆ Inhibidores de la acetilcolinesterasa: inhiben la acetilcolinesterasa para aumentar los niveles del neurotransmisor acetilcolina, implicado en la memoria y el aprendizaje y que se encuentra reducido en los cerebros con esta patología. Actualmente los fármacos que se usan son tres: donepezilo, rivastigmina y galantamina.
- ◆ Antagonistas de receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA): antagonizan los receptores de glutamato tipo NMDA para prevenir la estimulación neurológica aberrante. La memantina actúa como antagonista no competitivo de los receptores NMDA. La unión al receptor previene la entrada masiva de calcio que normalmente se produce en las células nerviosas cuando existe una excesiva actividad del glutamato. La memantina produce un efecto beneficioso leve en la cognición y en las actividades de la vida diaria en pacientes con EA moderada a grave, y en la cognición e impresión global en cuadros leves después de 6 meses (Amaro y cols., 2012).
- ◆ Tratamientos farmacológicos experimentales: antioxidantes entre los que se usan la vitamina E, la selegilina (inhibidor de la monoamino-oxidasa B, MAO-B), la vitamina B12, la cúrcuma y el ácido fólico, fármacos que tienen como diana el β -amiloide, inhibidores de la secretasa y vacunas frente al β -amiloide.

El impacto de estos fármacos en las manifestaciones de la enfermedad es modesto y transitorio, aunque estudios observacionales sugieren que el tratamiento combinado puede incrementar el tiempo antes de que los pacientes requieran cuidados asistenciales en casa (Lopez y cols, 2009). Sin embargo, ninguna de las terapias disponibles parece ser capaz de curar o atenuar la progresión de la enfermedad (Modi y cols, 2009).

Hay una necesidad urgente de desarrollar estrategias que mejoren la eficacia de los tratamientos actuales reduciendo los efectos secundarios asociados a ellos. En este sentido, el establecimiento de nuevas dianas terapéuticas y el diseño de nuevas formulaciones capaces de mejorar el acceso selectivo al lugar de acción (SNC) constituyen objetivos fundamentales en las nuevas terapias contra la EA (Gregori y cols., 2015).

1.3 La barrera hemato-encefálica

La distribución de fármacos al cerebro continúa siendo el mayor reto para el tratamiento de todas las enfermedades neurodegenerativas por las numerosas barreras protectoras que rodean al sistema nervioso central (Modi y cols., 2009). Los fármacos que deben alcanzar dianas en cerebro, como ocurre en el caso del Alzheimer, deben cruzar la BHE. Ésta es una barrera física y bioquímica que protege al cerebro de sustancias potencialmente dañinas del torrente sanguíneo y que previene el paso, y por tanto la actividad, del 98% de los fármacos que deben acceder al cerebro (Gregori y cols., 2015).

El componente principal de la BHE son las células especializadas endoteliales microvasculares del cerebro, que regulan el flujo de sustancias hacia dentro y hacia fuera del cerebro. Además, la BHE se compone de la membrana basal capilar y terminales sinápticos de astrocitos y pericitos. Es bien sabido que todos los componentes de la BHE son esenciales para su función fisiológica y su estabilidad (Wolburg y cols, 2009).

El acceso de las moléculas al cerebro es difícil porque la difusión paracelular está muy limitada en BHE, debido a la presencia de uniones estrechas ('tight junctions') entre las células endoteliales. Además, las moléculas en la circulación pueden conseguir el acceso al cerebro atravesando las células endoteliales por tres mecanismos principales: difusión pasiva, transporte mediado por receptores o transportadores, y transporte mediado por adsorción (Begley, 2004).

Por todo lo anteriormente indicado, es necesario encontrar nuevas opciones terapéuticas para conseguir este paso hacia el cerebro, y los nanosistemas abren una nueva vía de investigación. En la figura 3 se muestran los principales mecanismos implicados en el paso a través de la BHE de los nanosistemas.

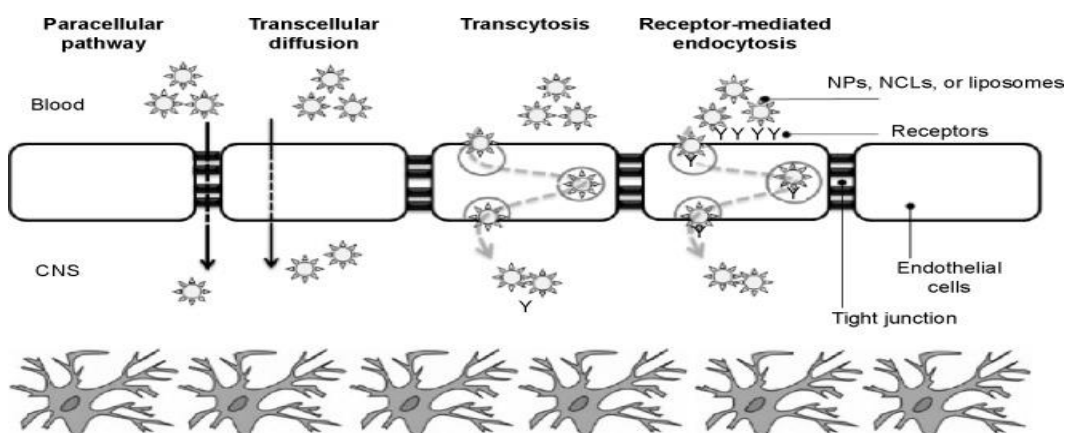


Figura 3. Principales rutas de los nanosistemas para atravesar barrera hematoencefálica y alcanzar el cerebro (Tomado de Fonteca-Santos y cols., 2015).

2. Objetivos

Debido al aumento de la prevalencia de la enfermedad de Alzheimer y a la falta de recursos terapéuticos que curen o frenen el curso de la enfermedad, este trabajo se centra en analizar las nuevas opciones terapéuticas que emplean la nanotecnología. Particularmente nos vamos a centrar en las nanopartículas y liposomas, unos de los nanosistemas más empleados actualmente en las líneas de investigación experimental que se orientan al tratamiento de la EA.

3. Metodología

Este trabajo ha sido realizado mediante la revisión bibliográfica de artículos científicos publicados en bases de datos como Pubmed y el acceso a la colección online de revistas suscritas o publicadas por la Universidad Complutense, así como a las bases de datos suscritas a ella.

Para ello se han introducido en la búsqueda variaciones de los siguientes términos: “Alzheimer”, “nanoparticles”, “nanosystems”, “treatment”, “drug delivery through the blood-brain barrier” o “nanotechnology for the treatment of neurodegenerative diseases”. Así como la combinación de los mismos, tanto en castellano como en inglés.

Se han escogido los artículos de publicación más reciente para realizar un trabajo lo más actualizado posible en un campo como es la nanotecnología que está en continua evolución.

4. Resultados y Discusión

La nanotecnología emplea sistemas con la organización funcional en la escala nanométrica (1-1000 nm) que son capaces de interactuar con sistemas biológicos a un nivel molecular (Modi y cols., 2009). Como ya hemos visto, el factor limitante más importante en el desarrollo de nuevos fármacos para el sistema nervioso central es la BHE (Potschka, 2010). Durante la pasada década ha habido numerosos intentos orientados a mejorar el paso de los fármacos a través de BHE. Entre ellas, las estrategias basadas en la nanotecnología cobran cada día un mayor interés.

En este trabajo se exponen a continuación algunas de las líneas de investigación basadas en el uso de nanosistemas para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

Entre los nanosistemas descritos como sistemas terapéuticos para la administración de fármacos que deben acceder al cerebro se encuentran los liposomas, nanopartículas (NPs) lipídicas sólidas, NPs poliméricas y NPs de oro (tabla 1). Se busca que éstos presenten las siguientes características: biocompatibilidad, estabilidad, biodegradabilidad, baja toxicidad, antigenicidad limitada y capacidad de funcionalización de su superficie. Además, se busca que puedan incorporar tanto fármacos hidrofóbicos como hidrofílicos y conseguir la administración controlada de los mismos (Gregori y cols., 2015).

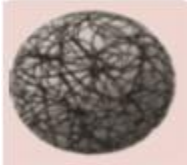



<u>TIPO DE NANOSISTEMA</u>	<u>TAMAÑO</u>	<u>ESQUEMA</u>	<u>FÁRMACO</u>
Nanopartículas poliméricas	1 - 1000 nm		Selegilina Rivastigmina
Nanopartículas lipídicas sólidas	50 - 1000 nm		Cúrcuma/Donepezilo
Liposomas	20 nm - 500 μ m		Donepezilo
Nanopartículas de oro	1 - 150 nm		---

Tabla 1. Tipos de nanopartículas más utilizados para la administración de fármaco que deben llegar al cerebro (imágenes tomadas de Gregori y cols., 2015).

4.1 Nanopartículas poliméricas

Dentro de los nanosistemas previamente indicados, gran parte de los estudios emplean nanopartículas poliméricas, debido a características tales como:

1. Su superficie puede ser modificada para alcanzar un órgano, tejido o célula específicos, de manera que permiten el acceso del fármaco de forma selectiva al lugar de acción.
2. Permiten liberar el fármaco de manera controlada en el tiempo.

3. Protegen a los fármacos incorporados contra la degradación enzimática.
4. Los efectos adversos son mínimos (Modi y cols., 2015).

Las nanopartículas poliméricas son transportadores a escala nanométrica, fabricados con polímeros naturales o sintéticos. Según su estructura interna tendremos nanoesferas o nanocápsulas. Las nanoesferas son sistemas matriciales donde el fármaco está disperso en una matriz polimérica. Las nanocápsulas por su parte son sistemas de tipo reservorio, donde el fármaco se encuentra en una cavidad central cubierta por una membrana polimérica que controla la cinética de liberación dependiendo de su naturaleza química (figura 4).

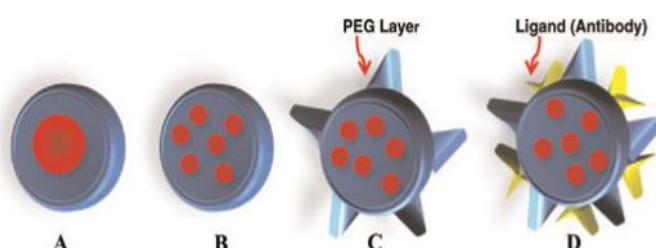


Figura 4. Tipos de nanopartículas para el transporte de fármacos al SNC, (A) nanocápsulas, (B-D) nanoesferas con el fármaco distribuido en una matriz polimérica/lipídica, tanto sin recubrimiento en la superficie (B) como con un revestimiento con un surfactante y/o capa de PEG (C), y recubrimiento adicional con anticuerpos y/o ligandos (D) (tomado de Modi y cols., 2009).

Las posibilidades que ofrecen las nanopartículas de modificar la distribución de un principio activo se ven limitadas por la captación que sufren por parte de las células del sistema fagocítico mononuclear (SFM). De manera que tras su administración y acceso a la circulación se busca que no sean reconocidas como un cuerpo extraño al organismo y así favorecer su circulación durante más tiempo, mejorando el acceso de los fármacos a los órganos diana. A este respecto se han estudiado diferentes alternativas, como la aplicación de un campo magnético externo para guiar las nanopartículas, el recubrimiento de las mismas con polímeros hidrofílicos y flexibles o la unión de ligandos específicos (Rabasco, 2001).

Así, cuando las nanopartículas se recubren con polietilenglicol (PEG) se impide que las proteínas plasmáticas se adsorban a nivel superficial, impidiendo el proceso

denominado opsonización mediante el cual las nanopartículas son marcadas por las opsoninas del plasma y son fagocitadas por los macrófagos (figura 5).

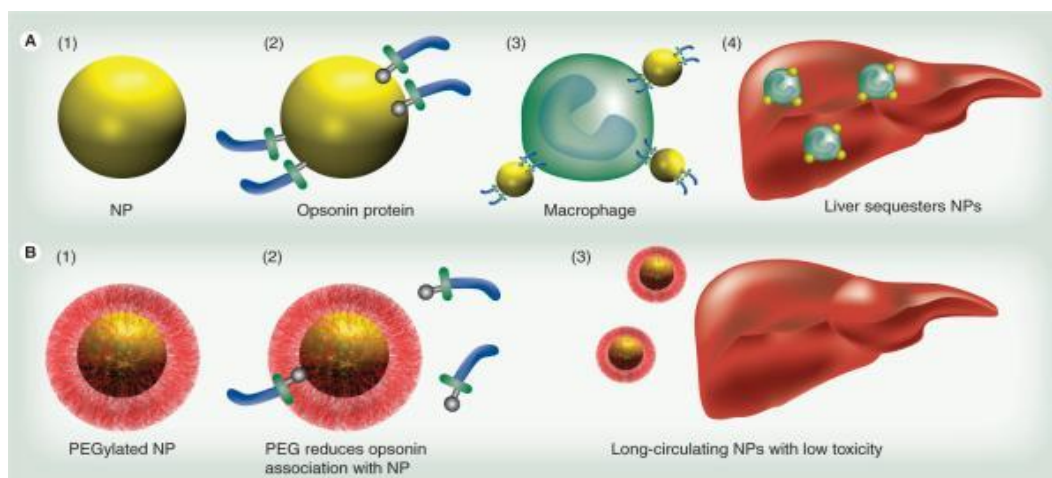


Figura 5. El polietilenglicol previene la recaptación por el sistema fagocítico nuclear (tomado de Jokerst y cols, 2011).

El PEG es un poliéter con un bajo grado de inmunogenicidad y antigenicidad ampliamente utilizado en la industria. En un estudio *in vitro* de 2013 Baysal y cols. (Baysal y cols., 2013) prepararon nanopartículas de PLGA (ácido poli-láctico-glicólico) recubiertas con PEG y cargadas con selegilina, un inhibidor selectivo de la MAO-B que ayuda a detener la degeneración neuronal. Las nanopartículas fueron preparadas por el método de emulsificación-extracción del disolvente a partir de una emulsión triple (A/O/A) obteniéndose nanopartículas con un tamaño de $217 \pm 15,5$ nm. En dicho trabajo se estudió la capacidad de desestabilización de las fibras de β -amiloide por las nanopartículas, evaluando la intensidad de fluorescencia de ThT. Dichos autores extrajeron como conclusión que las partículas de PEG-PLGA cargadas con selegilina pueden ser un prometedor transportador de fármaco para desestabilizar las fibras de β -amiloide en pacientes con Alzheimer.

Por otro lado, se ha comprobado que las características de superficie de las nanopartículas, así como su tamaño, afectan a su paso a través de la BHE. Estudios realizados por distintos autores indican que las NPs con tamaños alrededor de 250 nm pueden atravesar la BHE (Suchlfart y col., 2012). Sin embargo, el porcentaje de nanopartículas capaz de atravesar la barrera es bajo. Por ello, se han estudiado distintas estrategias para mejorar el acceso de las mismas al cerebro. Así, los estudios de Kreuter y colaboradores sugieren que las nanopartículas recubiertas con

polisorbato 80 son capaces de favorecer su paso a través de la BHE. Se cree que este proceso se produce por endocitosis vía receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL) después de la adsorción de apolipoproteína B y/o E sobre las nanopartículas durante su circulación sistémica (Kreuter 2004).

Las nanopartículas del polímero PBCA (poli-n-butilcianoacrilato) se han utilizado para dirigir fármacos al sistema nervioso central con un buen nivel de éxito (Kreuter, 2001; Bronich y cols., 2006). Estas partículas poseen un tamaño medio de 250 nm de diámetro y se cargan con fármacos en el proceso inicial de polimerización de la partícula o mediante absorción en la superficie de la partícula preformada. Las partículas son posteriormente revestidas con el tensioactivo polisorbato 80 (Tween 80®). Tras la administración intravenosa la superficie de la partícula sigue revistiéndose con proteínas del plasma que adsorbe, principalmente apolipoproteína E (Apo-E) (figura 6). Se propone que la partícula final es confundida por lipoproteínas de baja densidad (LDL) por el endotelio cerebral y es internalizada por el sistema de captación de LDL (Kreuter y cols., 2003; Kreuter y cols., 2002).

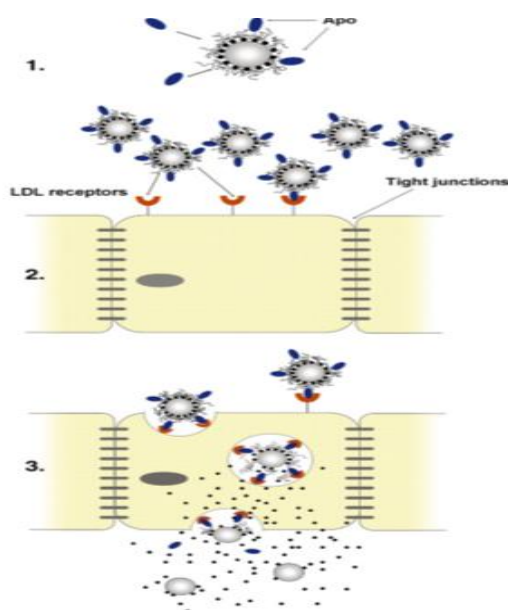


Figura 6. Representación esquemática del mecanismo propuesto de la captación de nanopartículas recubiertas con Polisorbato 80 (P80). 1. Adsorción de Apo en la superficie de la nanopartícula recubierta de P80. 2. Nanopartícula se une a los receptores de LDL en la BHE. 3. Endocitosis de la nanopartícula y liberación del fármaco a través de las células endoteliales de la BHE por exocitosis (Tomado de Blasi y cols., 2007).

Con el fin de mejorar el acceso de rivastigmina (inhibidor de la acetilcolinesterasa) a cerebro, Wilson y cols. (Wilson y cols., 2008) han preparado nanopartículas cargadas con dicho ingrediente activo. La evaluación de los distintos tratamientos ensayados se realizó en ratas. Éstas se dividieron en varios grupos: el grupo control en el que recibieron la rivastigmina en solución, y otro grupo de ratas que recibieron nanopartículas de rivastigmina preparadas con PBCA (poli-n-butilcianoacrilato) y recubiertas con polisorbato 80. Se observó un aumento significativo de la rivastigmina en el cerebro en las ratas que habían recibido las nanopartículas con el fármaco respecto a las que recibieron la rivastigmina en solución. Este hecho pueden suponer una mejora importante para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

4.2 Nanopartículas lipídicas sólidas

Son sistemas particulados coloidales compuestos por lípidos que son sólidos a temperatura fisiológica, estabilizados por emulsificantes fisiológicamente compatibles.

Tienen capacidad de carga limitada, son biodegradables, presentan buena tolerancia y pueden reproducirse fácilmente a mayor escala (Gastaldi y cols., 2014).

La barrera hemato-encefálica puede superarse mediante el uso de nanopartículas lipídicas sólidas o transportadores lipídicos que permitan el acceso de fármacos al cerebro (figura 7), ya que estas formulaciones pueden penetrar la BHE o usarse vía intranasal para evitarla. Así, Sood y cols (Sood y cols., 2013) desarrollaron nanopartículas lipídicas sólidas (figura 7) de 50 nm cargadas con cúrcuma (neuroprotector antiinflamatorio de origen natural) y donepezilo para la administración por vía intranasal, en un modelo animal de Alzheimer.

Para desarrollar el modelo se utilizaron ratas a las que se les administró intracerebralmente un citotóxico (estreptozotocina) que provoca una enfermedad que se asemeja en sus aspectos moleculares, patológicos y de comportamiento a la enfermedad de Alzheimer. Este trabajo demostró que las nanopartículas lipídicas sólidas con donepezilo administradas por vía nasal lograban mayores concentraciones de donepezilo en el cerebro y un menor aclaramiento en comparación a cuando se administraba el donepezilo por vía endovenosa. El grupo de ratas tratado con nanopartículas lipídicas sólidas cargadas con donepezilo demostró una mejora en los

test de comportamiento y en los niveles de acetilcolina en el cerebro, comparado con el grupo de ratas tratado solamente con el donepezilo en solución. Además, se observó una reducción del daño oxidativo en cerebro en las ratas tratadas con estas nanopartículas lipídicas sólidas de donepezilo.



Figura 7. Esquema de una nanopartícula lipídica sólida a la que se incorpora el fármaco (tomado de Fonseca-Santos y cols., 2015).

4.3 Nanoliposomas

Son estructuras vesiculares constituidas por una o más capas lipídicas (figura 8) concéntricas que encierran un número igual de compartimentos acuosos. Generalmente están formados por fosfolípidos y colesterol de origen natural.

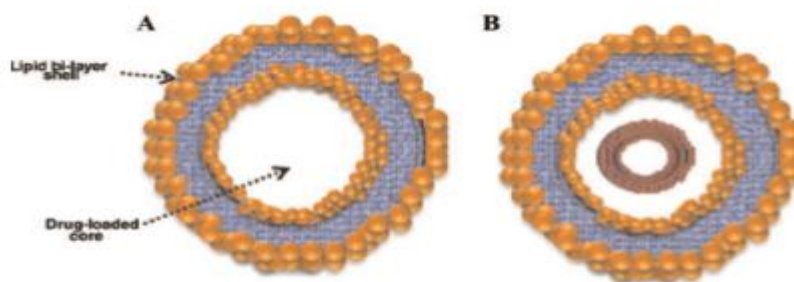


Figura 8. Tipos de nanoliposomas para el transporte de fármacos a través de barrera hemato-encefálica. Pueden ser unilaminares (A) o multilaminares (B) (tomado de Modi y cols., 2009).

En los liposomas se pueden incorporar cantidades de fármaco relativamente altas, tanto en los compartimentos acuosos como entre las bicapas lipídicas. Se puede conseguir ampliar su tiempo en la circulación sistémica mediante modificaciones

superficiales que reduzcan la opsonización en plasma y disminuyan su reconocimiento y eliminación por el hígado y el bazo (Modi y cols., 2009).

Yang y colaboradores (Yang y cols., 2013) formularon liposomas de administración nasal modificados con un péptido de penetración celular (cell-penetrating peptide, CPP) (figura 9) y cargados con rivastigmina para aumentar el acceso del fármaco al cerebro y minimizar los efectos adversos. Este estudio se realizó *in vivo* en ratas a las cuales se les administró por vía nasal liposomas de rivastigmina unidos al péptido de penetración celular y la rivastigmina en solución; y por vía endovenosa la rivastigmina en solución. Los resultados mostraron que las concentraciones de rivastigmina a las 8 horas de administración fueron más altas cuando se administraron vía nasal con el liposoma asociado al péptido de penetración celular que al administrar el fármaco en solución. Por otro lado confirmaron que la rivastigmina vía nasal alcanza una distribución mucho mayor y mayor tiempo de retención en cerebro que por vía endovenosa. Por tanto, los liposomas conjugados con el péptido de penetración celular y rivastigmina pueden mejorar el transporte transmembrana del fármaco comparado con la administración de la rivastigmina en solución.

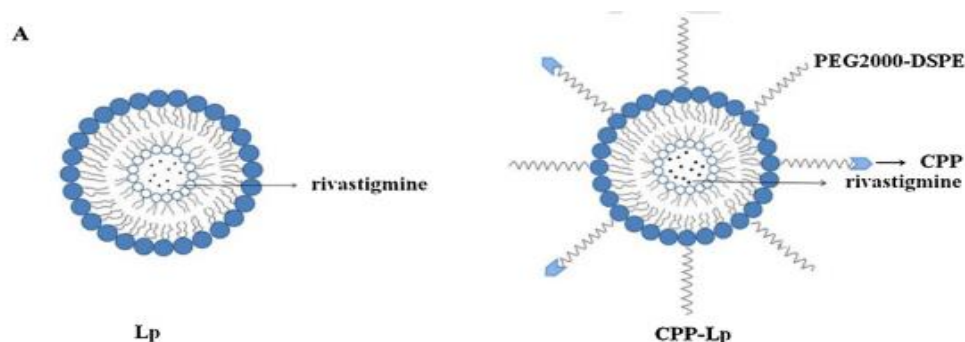


Figura 9. Liposoma unido a rivastigmina (A) y liposoma unido a rivastigmina y conjugado con un péptido de penetración celular (B) (tomado de Yang y cols., 2013).

4.4 Nanopartículas de oro

Las nanopartículas de oro (1-150 nm de diámetro) son las nanopartículas metálicas más estables a nivel de nanoescala. Se ha demostrado que las nanopartículas de oro alcanzan el cerebro y se acumulan en las neuronas incluso en ausencia de una funcionalización específica (Sousa y cols, 2010).

Una estrategia propuesta recientemente para el tratamiento de EA consiste en la utilización de nanopartículas de oro capaces de destruir las fibrillas y placas de β -

amiloide que contribuyen al deterioro mental en la enfermedad de Alzheimer. Dichas nanopartículas podrían frenar o enlentecer la progresión de la EA sin dañar las células cerebrales sanas (Gregori y cols., 2015).

El péptido β -amiloide se pliega de manera no natural en la EA y forma agregados que se pueden disolver mediante nanopartículas de oro que localizan el calor debido a que son metálicas.

Así Kogan y cols. (Kogan y cols., 2006) han preparado nanopartículas de oro de 10 nm con diferentes ligandos que sean capaces de unirse al péptido β -amiloide, como por ejemplo anticuerpos específicos contra el amiloide. El sistema se incubó *in vitro* con fibrillas de β -amiloide durante varios días y después se expuso a campos de microondas débiles durante varias horas. Los niveles de energía de los campos fueron seis veces más pequeños que los de teléfonos móviles y, por tanto, es bastante improbable que dañen a las células sanas. El tratamiento fue efectivo al romper las fibrillas y reducir la tendencia de las proteínas a reagregarse (figura 10). Por lo tanto el sistema podría ser adecuado para el tratamiento de otras enfermedades neurodegenerativas que involucren la agregación de proteínas, incluyendo la enfermedad de Parkinson.

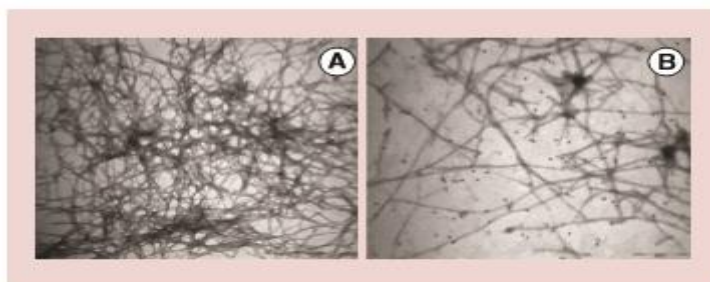


Figura 10. Imagen de microscopio electrónico que muestra fibras de β -amiloide (A) y nanopartículas de oro conjugadas con un péptido de unión al β -amiloide (B), ambas acopladas a un campo débil de microondas. En B se aprecia claramente la disolución de depósitos de amiloide *in vitro* (tomado de Gregori y cols., 2015).

5. Conclusiones

El desarrollo de la nanotecnología está suponiendo una revolución en diferentes campos de la medicina, tanto en el diagnóstico precoz como en el tratamiento de numerosas enfermedades entre las que se incluyen las que afectan al sistema nervioso

central como el Alzheimer. La nanotecnología ha demostrado tener un gran potencial para proporcionar opciones terapéuticas que limiten y reviertan la patología de enfermedades neurodegenerativas como en el caso del Alzheimer, facilitando el paso de los fármacos a través de barrera hemato-encefálica y estimulando la regeneración funcional de las neuronas dañadas.

Bibliografía

- Amaro L, Cuellar S, Blanes A, Dauder B, Díez L, Espada I y cols (2012). Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos en España. Revisión Enfermedad de Alzheimer. *Panorama Actual Med.* 36, 647-667.
- Banks WA (2011). Drug delivery to the brain in Alzheimer's disease: considerations of the blood-brain barrier. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64, 629-639.
- Baysal I, Yabanoglu-Ciftci S, Tunc-Sarisozen Y, Ulubayram K y Ucar G (2013). Interaction of selegiline-loaded PLGA-bPEG nanoparticles with beta-amyloid fibrils. *J. Neural. Transm.* 120, 903-910.
- Begley DJ (2004). Delivery of therapeutic agents to the central nervous system: the problems and the possibilities. *Pharmacol. Ther.* 104, 29-45.
- Blasi P, Giovagnoli S, Schoubben A, Rizzi M y Rossi C (2007). Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59, 454-477.
- Bronich TK, Bontha S, Shlyakhtenko LS y cols (2006). Template-assisted synthesis of nanogels from pluronic-modified poly(acrylic acid). *J. Drug Target.* 14, 357-366.
- Fonseca-Santos B, Daflon MP y Chorilli M (2015). Nanotechnology-based drug delivery systems for the treatment of Alzheimer's disease. *Int. J. Nanomedicine* 10, 4981-5003.
- Gastaldi L, Battaglia L, Peira E y cols (2014). Solid lipid nanoparticles as vehicles of drugs to the brain: current state of the art. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 87, 433-444.
- Gregori M, Masserini M y Mancini S (2015). Nanomedicine for the treatment of Alzheimer's disease. *Nanomedicine* 10, 1203-1218.
- INE. Instituto Nacional de Estadística (sitio web). Notas de prensa. Defunciones según la causa de muerte. Año 2014. Consultado el 15 de mayo de 2016 en <http://www.ine.es/prensa/np963.pdf>.
- Eckman EA y Eckman CB (2005). A β -degrading enzymes: modulators of Alzheimer's disease pathogenesis and targets for therapeutic intervention. *Biochem. Soc. Trans.* 33, 1101-1105.
- Johnson KA, Fox NC, Sperling RA y Klunk WE (2012). Brain imaging in Alzheimer's disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2, 1-26.
- Jokerst JV, Lobovkina T, Zare RN y Gambhir SS (2011). Nanoparticle PEGylation for imaging and therapy. *Nanomedicine* 6, 715-728.
- Kabanov AV y Gendelman HE (2007). Nanomedicina in the diagnosis and therapy of neurodegenerative disorders. *Prog. Polym. Sci.* 32, 1054-1082.
- Kogan MJ, Bastus NG, Grillo-Bosch RD y cols. (2006). Nanoparticle-mediated local and remote manipulation of protein aggregation. *Nano. Lett.* 6, 110-115.

- Kreuter J (2001). Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 47, 65-81.
- Kreuter J, Shamenkov D, Petrov V y cols (2002). Apolipoprotein-mediated transport of nanoparticle-bound drugs across the blood-brain barrier. *J. Drug Target.* 10, 317-325.
- Kreuter J, Ränge P, Petrov V y cols (2003). Direct evidence that polysorbate-80-coated poly(butylcyanoacrylate) nanoparticles deliver drugs to the CNS via specific mechanisms requiring prior binding of drug to the nanoparticle. *Pharm. Res.* 20, 409-416.
- LeBlanc AC (2005). The role of apoptotic pathways in Alzheimer's disease neurodegeneration and cell death. *Curr. Alzheimer Res.* 2, 389-402.
- Liu G, Garrett MR, Men P, Zhu X, Perry G y Smith MA (2005). Nanoparticle and other metal chelation therapeutics in Alzheimer disease. *Biochim. Biophys. Acta* 1741, 246-252.
- Lopez OL, Becker JT, Wahed AS, Saxton J, Sweet RA, Wolk DA, Klunk W y Dekosky ST (2009). Long-term effects of the concomitant use of memantine with cholinesterase inhibition in Alzheimer disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 80, 600-607.
- Modi G, Pillay V y Choonara Y (2009). Advances in the treatment of neurodegenerative disorders employing nanotechnology. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1184, 154-172.
- Muñoz López FJ (2001). El péptido β -amiloide: mecanismos de neurotoxicidad. Neuroprotección por antioxidantes y estrógenos. *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.* 36, 109-116.
- Murphy MP y LeVine H (2010). Alzheimer's disease and the amyloid-beta peptide. *J. Alzheimers Dis.* 19, 311-323.
- Potschka H (2010). Targeting the brain-surmounting or bypassing the blood-brain barrier. *Handb. Exp. Pharmacol.* 197, 411-431.
- Querfurth H y Laferla F (2010). Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* 362, 329-344.
- Rabasco AM (2001). Nuevas formas de administración de medicamentos. En Vila-Jato (ed.), *Tecnología farmacéutica. Volumen II: Formas Farmacéuticas* (pp. 383-434). Madrid: Síntesis S.A.
- Rang H, Dale M, Ritter J y Flower R (2008). *Farmacología* (6ª ed). Elsevier (Barcelona).
- Suchlfart S, Gelperina S y Kreuter J (2012). Transport of drug across the bloodbrain barrier by nanoparticles. *J. Control. Release*, 161, 264-273.
- Sood S, Jain K y Gowthamarajan K (2013). Curcumin-donepezil-loaded nanostructured lipid carriers for intranasal delivery in an Alzheimer's disease model. *Alzheimers Dement.* 9, 299.
- Sousa F, Mandal S, Garrovo C y cols (2010). Functionalized gold nanoparticles: a detailed in vivo multimodal microscopic brain distribution study. *Nanoscale* 2, 2826-2834.
- Wilson B, Samanta MK, Santhi K, Kumar KP, Paramakrishnan N y Suresh B (2008). Poly(n-butylcyanoacrylate) nanoparticles coated with polysorbate 80 for the targeted delivery of rivastigmine into the brain to treat Alzheimer's disease. *Brain Res.* 1200, 159-168.
- Wolburg H, Noell S, Mack A, Wolburg-Buchholz K y Fallier-Becker P (2009). Brain endothelial cells and the glio-vascular complex. *Cell Tissue Res.* 335, 75-96.
- Yang ZZ, Zhang YQ, Wang ZZ, Wu K, Lou JN y Qi XR (2013). Enhanced brain distribution and pharmacodynamics of rivastigmine by liposomes following intranasal administration. *Int. J. Pharmaceut.* 452, 344-354.